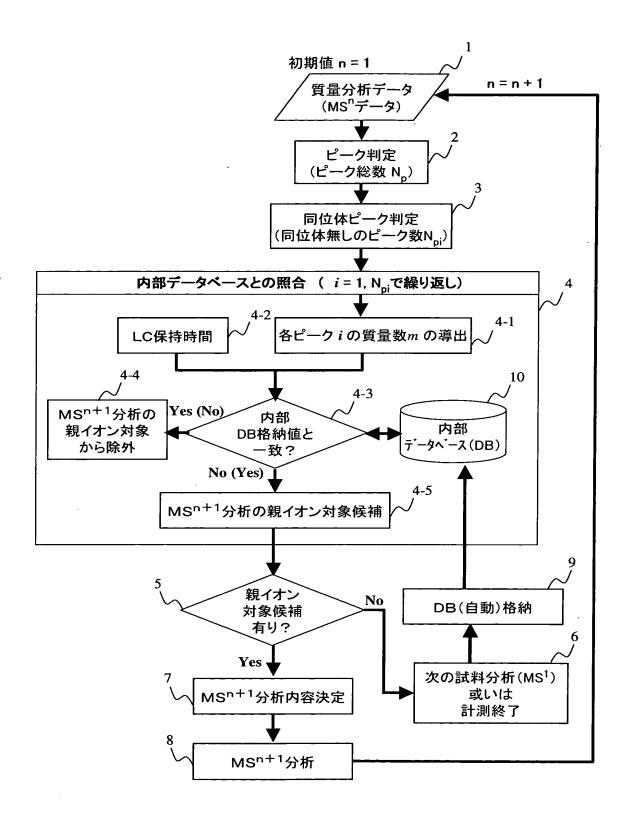
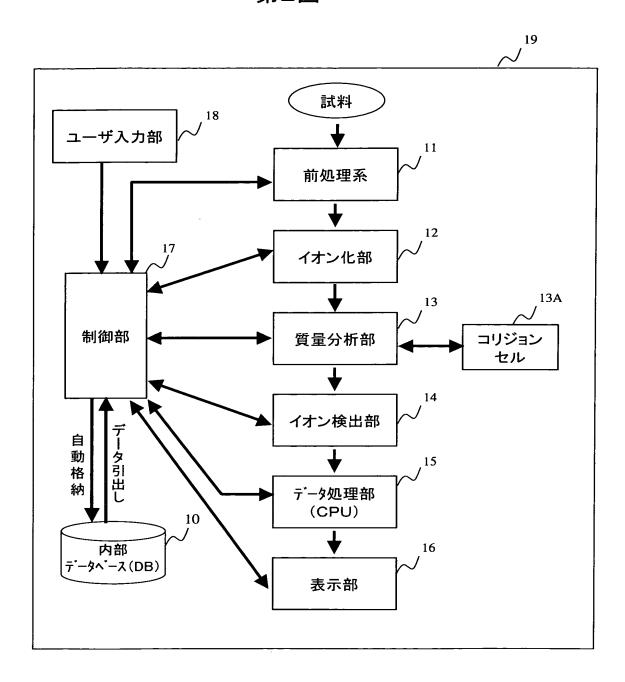
第1図

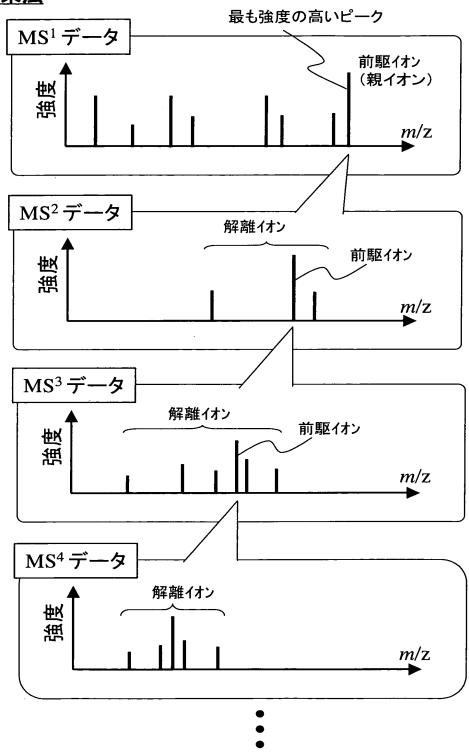


第2図

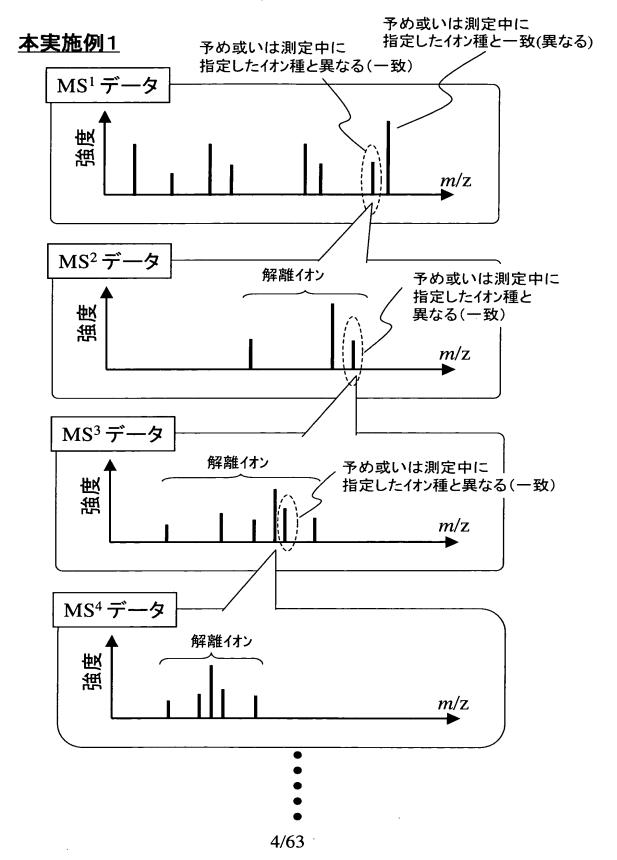


## 第3A図

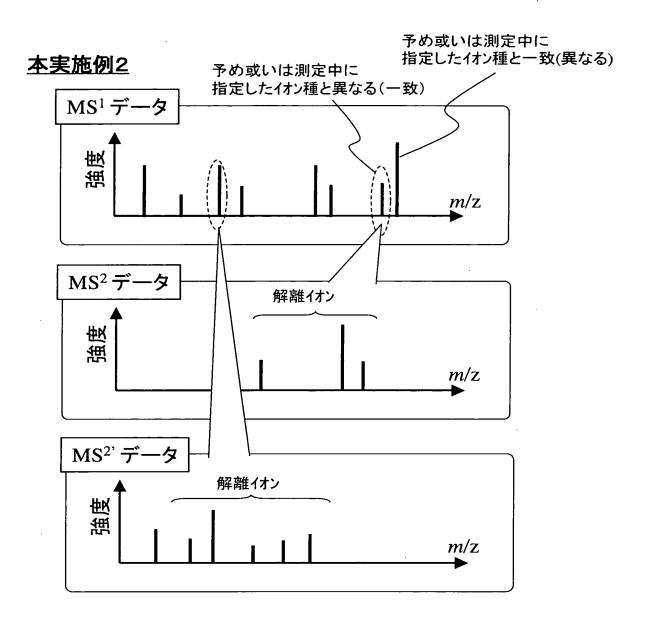




## 第3B図



## 第3C図





## 第4図

DB(自動)格納

#### 同定済み蛋白質 A のアミノ酸配列

#### ヒトミオグロビンの場合

---YLEFISECIIQVLQSKHPGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG --- C末端



#### 消化酵素の種類

《例》トリプシン の場合

切断の特徴-----C末端がR, K



#### 酵素消化後、予想される生成ペプチドの配列&質量数

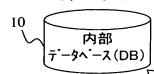
予想生成ペプチド	アミノ酸配列*	質量数 m [Da]
ペプチドA	MGLSDGEWQLVLNVWGK	1932.20484
ペプチドB	VEADIPGHGQEVLIR	1632.81642
ペプチドC	LFK	406.519220
ペプチドD	GHPETLEK	909.983260
ペプチドE	FDK	408.448980
ペプチドF	FK	293.361540
ペプチドG	HLK	396.484720
ペプチドH	SEDEMK	737.777560
ペプチドΙ	ASEDLK	661.702060
ペプチドJ	K	146.187640
ペプチドK	HGATVLTALGGILK	1350.60666
ペプチドレ	K	146.187640
ペプチドM	K	146.187640
ペプチドN	GHHEAEIK PLAQSHATK	1854.048
ペプチドO	нк	283.327040
ペプチドP	IPVK	455.591640
ペプチドQ	YLEFISECIIQVLQSK	1913.23960
ペプチドR	HPGDFGADAQGAMNK	1515.60806
ペプチドS	ALELFR	747.882340
ペプチドT	K	146.187640
ペプチドU	DMASNYK	827.903480
ペプチドV	ELGFQG	649.692900



\*:アミノ酸の一文字表記

内部データベースに(自動)格納

## 第5図



#### 内部 DBの内容

・一度、MSn(n≥2)計測終了したペプチドの特性データ

(質量数 m, LCの保持時間 t, 価数 z, 質量対電荷比 m/z,検出強度I, 分析条件)

[	ペプチド名/配列	m [Da]	z [-]	m/z	I	T [min]	分析条件(例:タンデム分析次数)
	ペプチドA	200	1	200	15160	20	2
- [	ペプチドB	700	2	350	2100	28	3
-	ペプチドC	450	1	450	4754	35	2
-	:	•	:	:	:	:	:
	•	•	•	•	•	•	•

・一度同定した**タンパク質**或いはタンデム分析対象から除外したい**タンパク質**由来のペプチドの特性データ (タンパク質名やID番号, 質量数 m, LCの保持時間  $\tau$ , 価数 z, 質量対電荷比 m/z,検出強度I, 分析条件)

ペプチド名/配列	蛋白質名	m [Da]	z [-]	m/z	I	T [min]	分析条件 (例:タンデム 分析次数)
ペプチドA	蛋白質A	570	1	570	25010	25	刀切( <b>次致</b> ) 2
ペプチドB	蛋白質A	652	1	652	3140	32	3
ペプチドC	蛋白質A	652	2	326	58754	45	2
	:	:	:	:	:	:	
ペプチドD	蛋白質B	1042	2	521	6456	22	2
ペプチドE	蛋白質B	718	2	359	3080	35	3
ペプチドF	蛋白質B	671	2	335.5	8054	48	3
•	:	<u>.</u>	:	:	:	•	

・一度、MS<sup>n</sup>(n≥2)計測終了した糖鎖の特性データ

(質量数 m, LCの保持時間 t, 価数 z, 質量対電荷比 m/z,検出強度I, 分析条件)

糖鎖名/構造	m [Da]	z [-]	m/z	I	T [min]	分析条件(例:タンデム分析次数)
糖鎖A	1002	2	501	15710	55	2
糖鎖B	840	2	420	8340	34	3
糖鎖C	1280	2	640	10754	42	2
	•	:	:	:	:	•

・一度、MS<sup>n</sup>(n≥2)計測終了した**化学物質**の特性データ

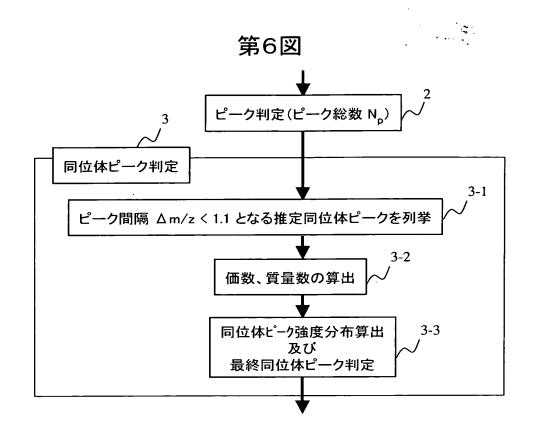
(質量数 m, LCの保持時間 t, 価数 z, 質量対電荷比 m/z,検出強度I, 分析条件)

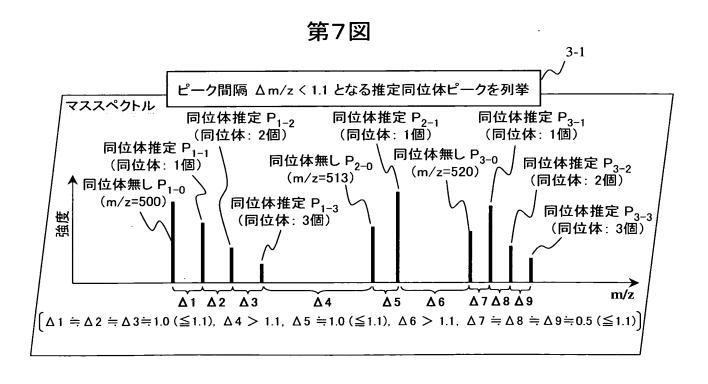
化学物質名/構造	m [Da]	z [-]	m/z	I	T [min]	分析条件(例:タンデム分析次数)
化学物質A	270	1	270	85510	23	2
化学物質B	358	1	358	9840	47	2
化学物質C	682	2	341	20764	82	2
1 :	:	:	:	:	:	<b>:</b>
	i	<u> </u>	<u> </u>		<u> </u>	

・ノイズや不純物由来のイオン種の特性データ

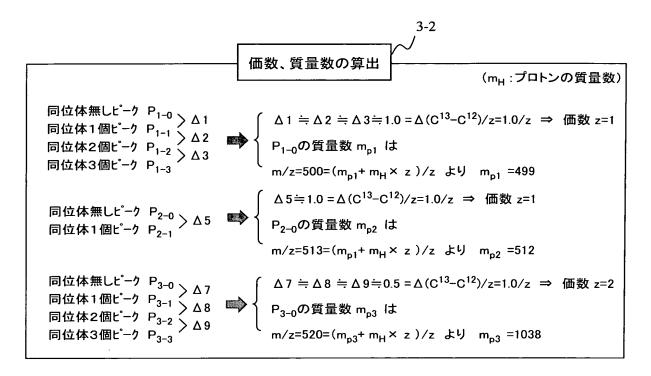
(質量数 m, LCの保持時間  $\tau$ , 価数 z, 質量対電荷比 m/z,検出強度I, 分析条件)

m [Da]	z [-]	m/z	I	T [min]	分析条件(例:タンデム分析次数)	
361	1	361	-	15	-	
640	1	640	_	40	-	
740	1	740	-	31	_	
•	•	•	•	•	•	
:	<u> </u>	<u>:</u>	<u>    :                                </u>	<u> </u>	:	

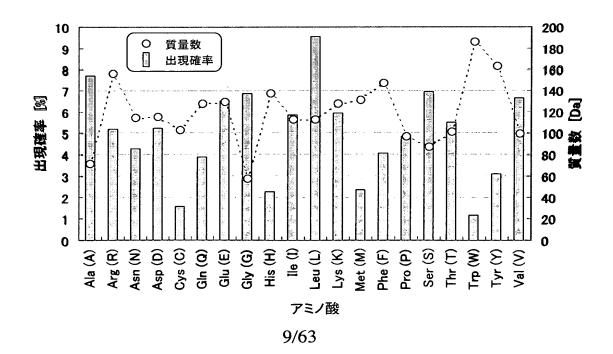




### 第8図



## 第9A図



#### 同位体ピーク強度分布算出 及び 最終同位体ピーク判定

#### 質量数から各元素数の算出

ペプチド (C<sub>Nc</sub>N<sub>Nn</sub>H<sub>Nh</sub>O<sub>No</sub>S<sub>Ns</sub>) の場合

Cの数:Nc= m × nC / 111.1807 Oの数:No= m × nO / 111.1807 Nの数:Nn= m × nN / 111.1807

Hの数: Nh= m × nH / 111.1807 Sの数: Ns= m × nS / 111.1807 表A. 平均アミノ酸 111.1807 [amu] 当たりの各元素数

пC	nO	nN	nН	nS
4.9583	1.4733	1.3547	7.8185	0.0396

#### 同位体ピーク強度分布の算出

#### 表B. 各同位体元素の質量と存在比

#### 同位体 (C<sup>13</sup>)のみ考慮 の場合

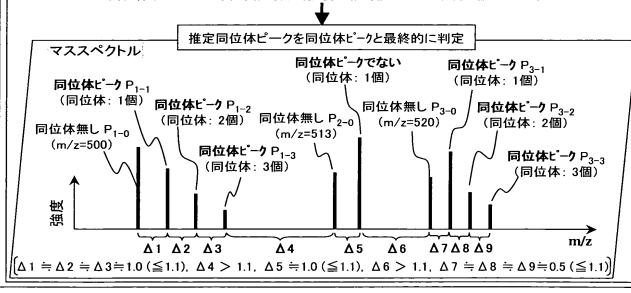
同位体ピーク強度  $P_{Nis}$  (同位体数 がNis個の時):

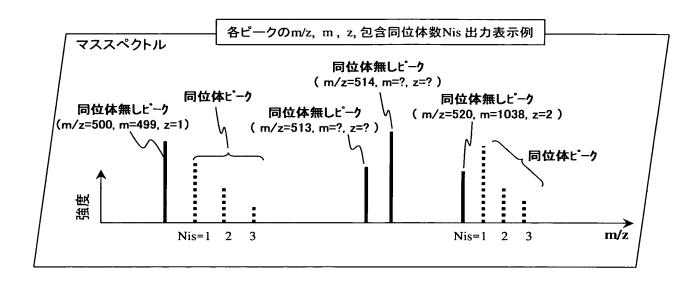
 $P_{Nis} = [_{Nc}C_{Nis} \cdot pC(1)^{(Nc-Nis)} \cdot pC(2)^{Nis}]$   $\times pH(1)^{Nh} \cdot pN(1)^{Nn} \cdot pO(1)^{No} \cdot pS(1)^{Ns}$ 

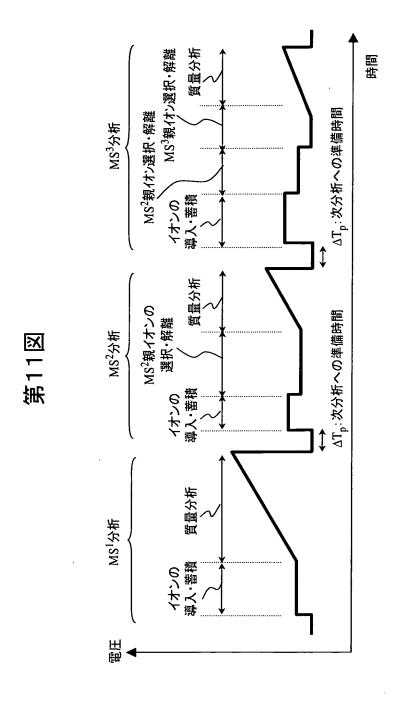
	質	量数	存在比		
С	mC(1)	12	pC(1)	0.9889	
	mC(2)	13.003354	pC(2)	0.0111	
H	mH(1)	1.007825	pH(1)	0.9999	
	mH(2)	2.014102	pH(2)	0.0001	
N	mN(1)	14.003074	pN(1)	0.9963	
	mN(2)	15.000108	pN(2)	0.0037	
0	mO(1)	15.994915	pO(1)	0.9976	
1 .	mO(2)	16.999133	pO(2)	0.0004	
	mO(3)	17.999160	pO(3)	0.0020	
S	mS(1)	31.972074	pS(1)	0.9502	
	mS(2)	32.971460	pS(2)	0.0075	
1	mS(3)	33.967864	pS(3)	0.0422	
	mS(4)	35.967091	pS(4)	0.0001	

#### 最終同位体ピーク判定

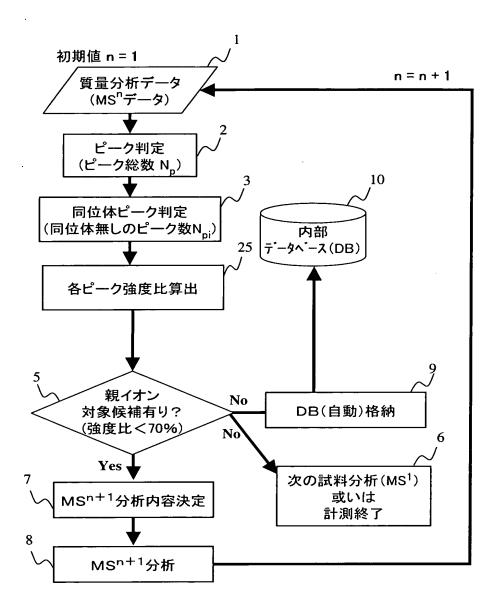
推定同位体ピークのうち、同位体ピークの強度分布算出値P<sub>Nis</sub>と同位体無しピークに対する相対計測強度の相対値が50%未満の誤差で一致



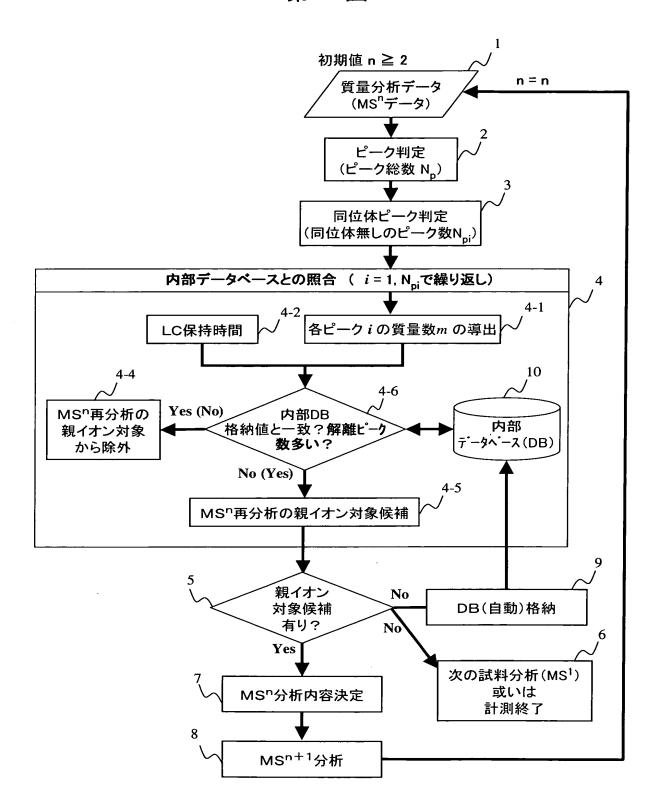




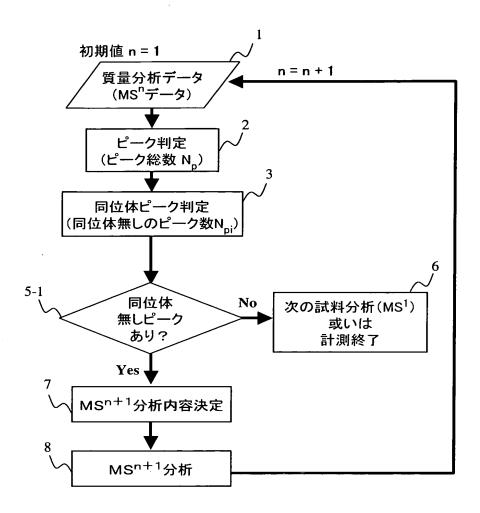
## 第12図



第13図

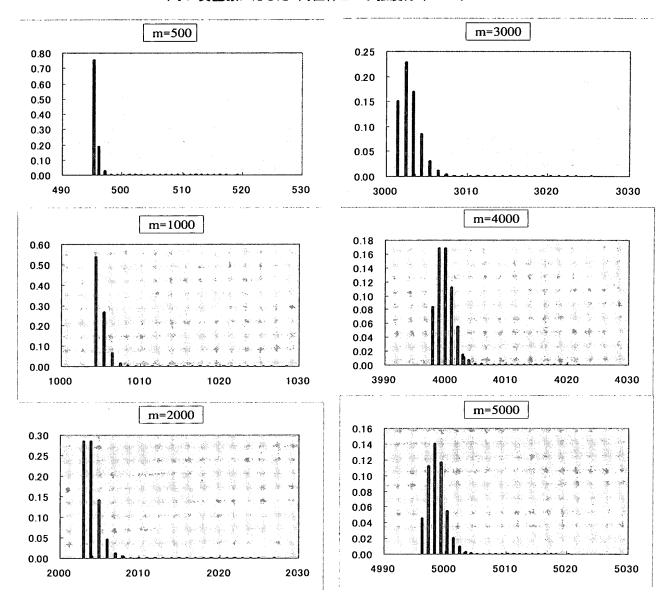


## 第14図

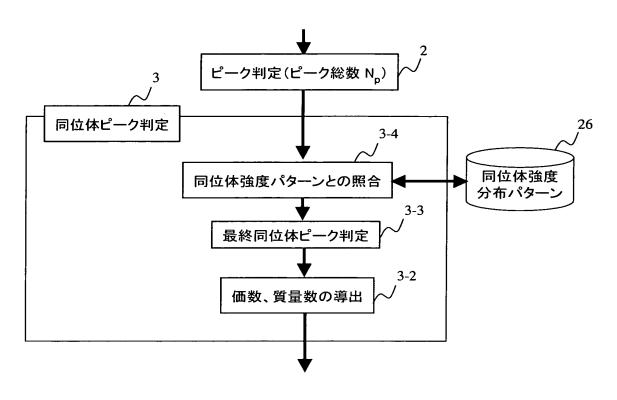


第15図

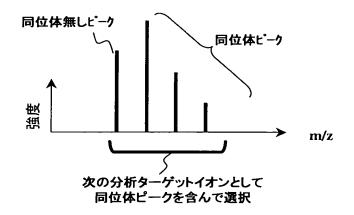
イオン質量数に応じた 同位体ピーク強度分布のパターン



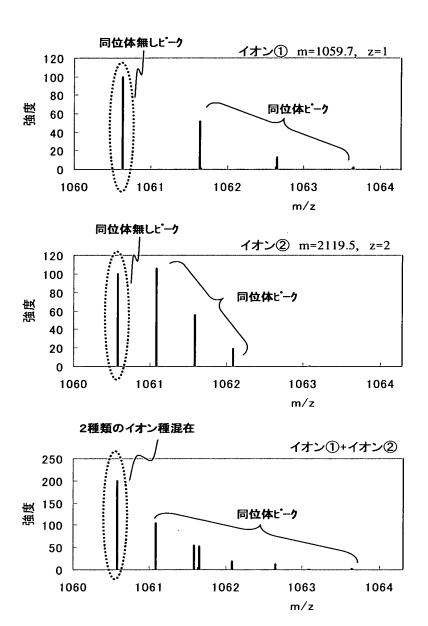
第16図

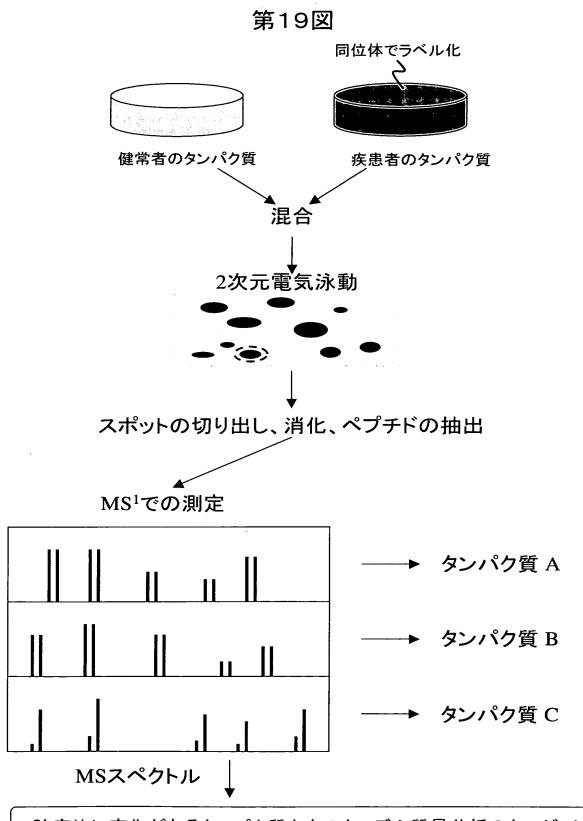


第17図



## 第18図

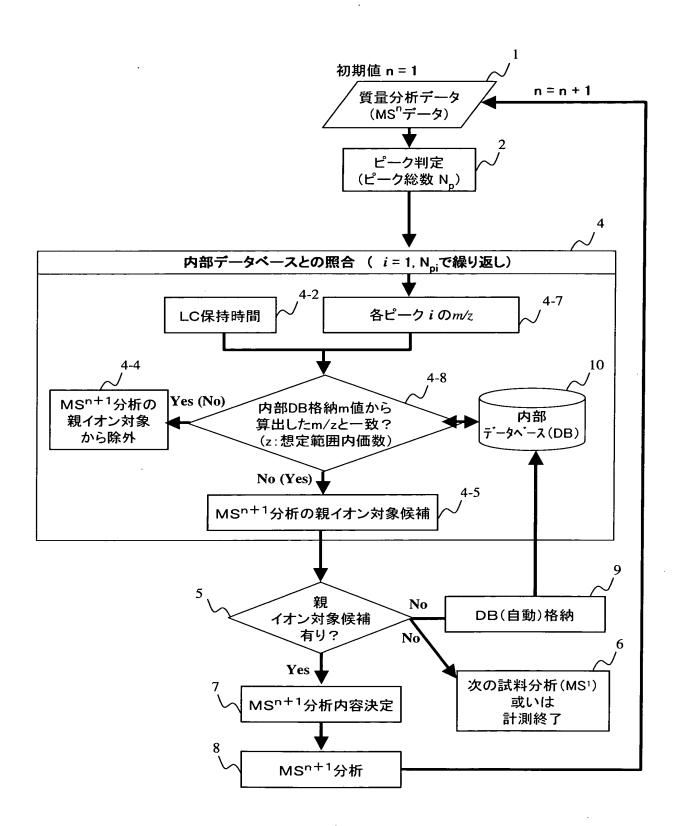




N

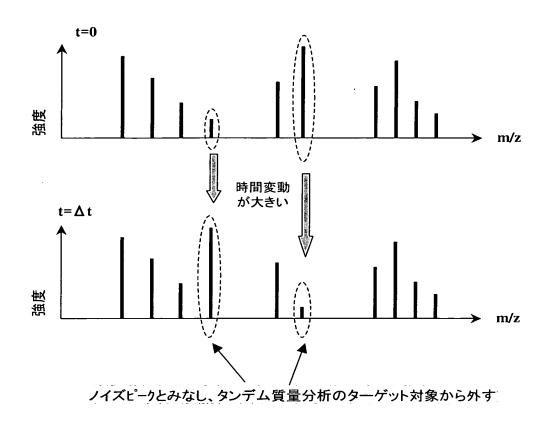
強度比に変化があるタンパク質を次のタンデム質量分析のターゲット

## 第20図

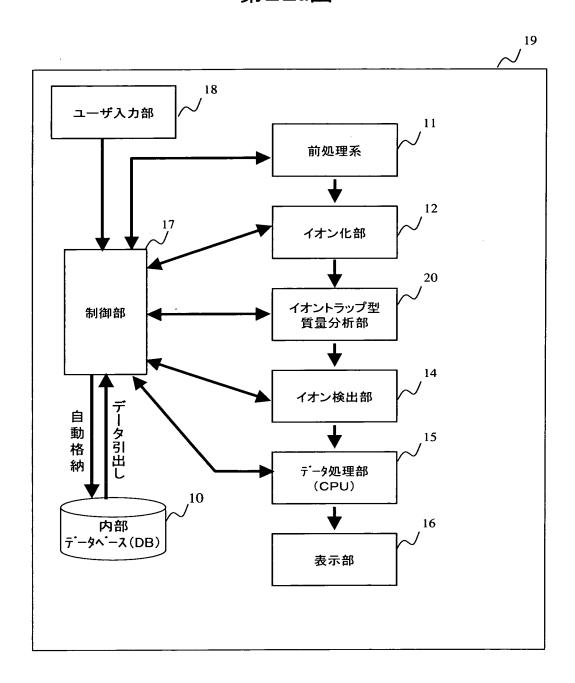


第21図

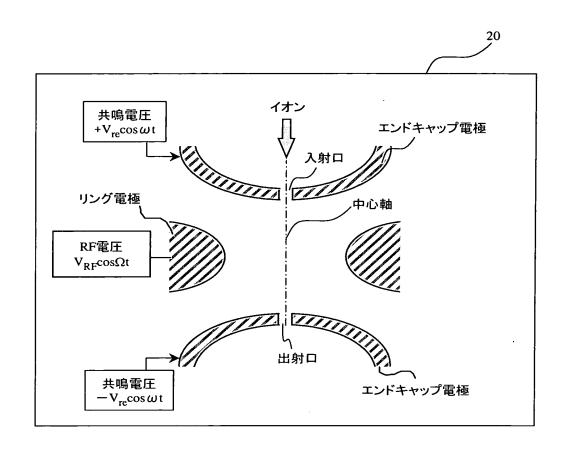
マススペクトル



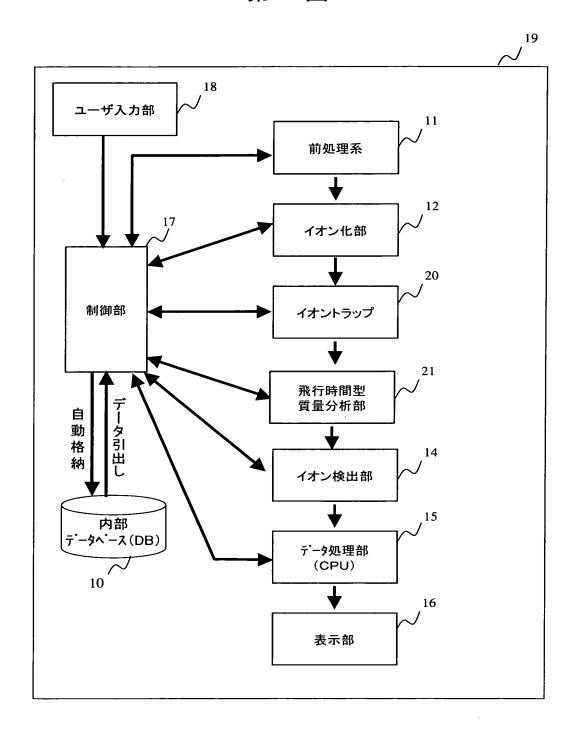
第22a図



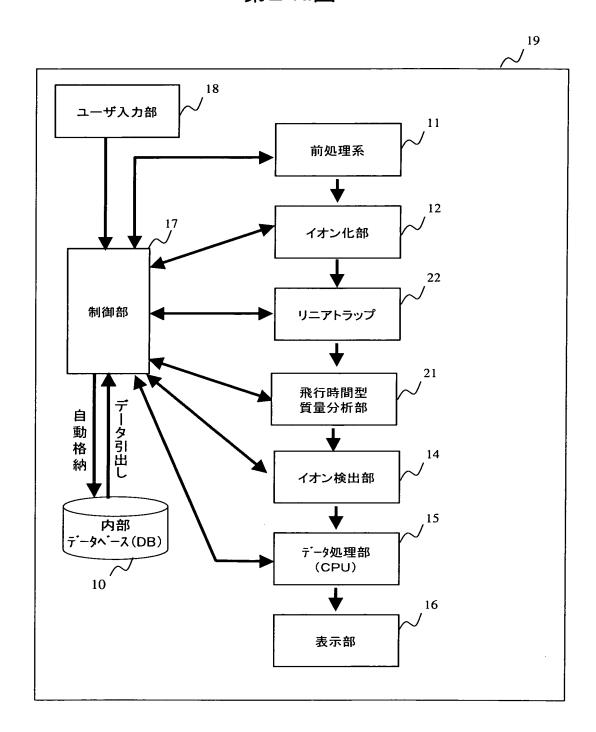
## 第22b図



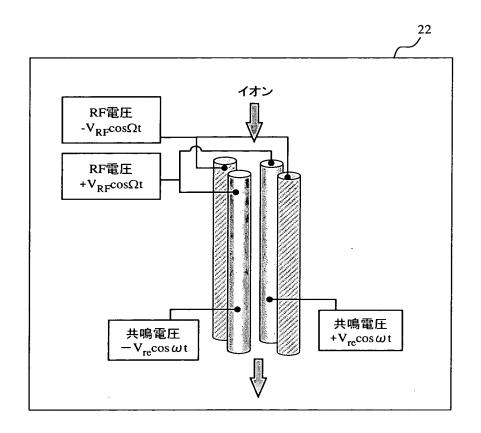
第23図



# 第24a図

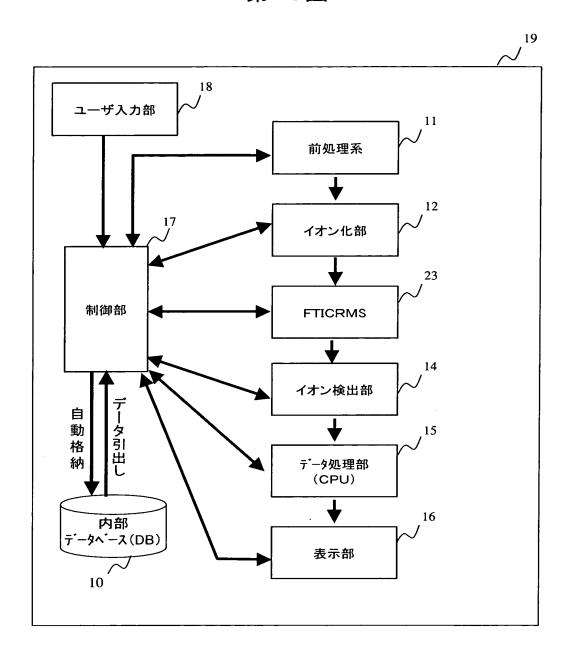


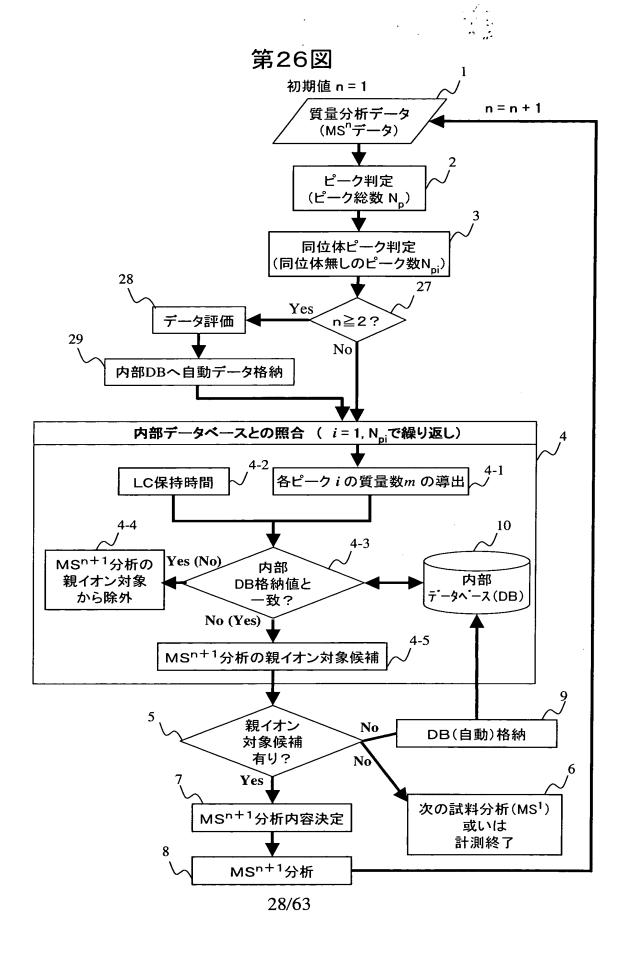
# 第24b図



## 第25図

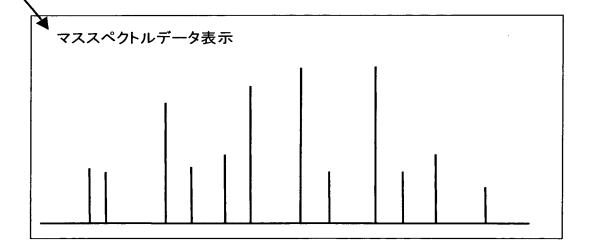
n lyc Transiti

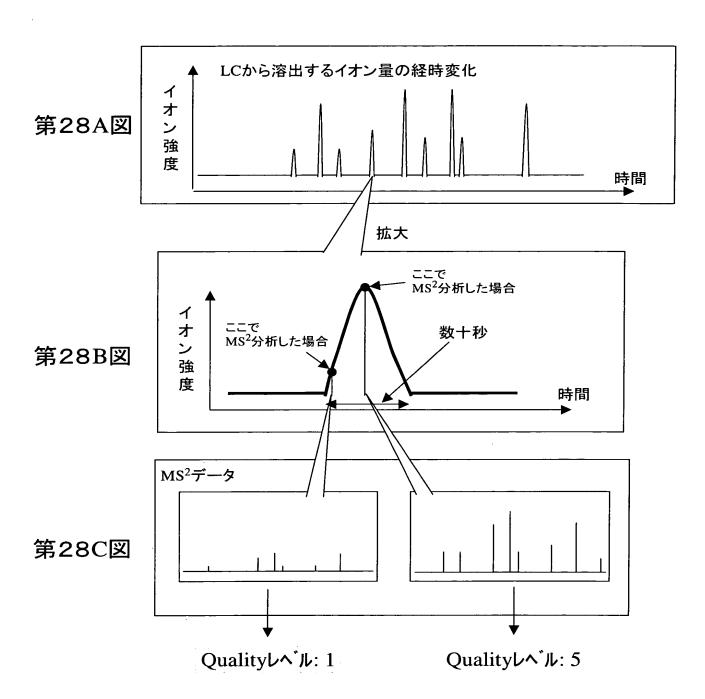




第27図

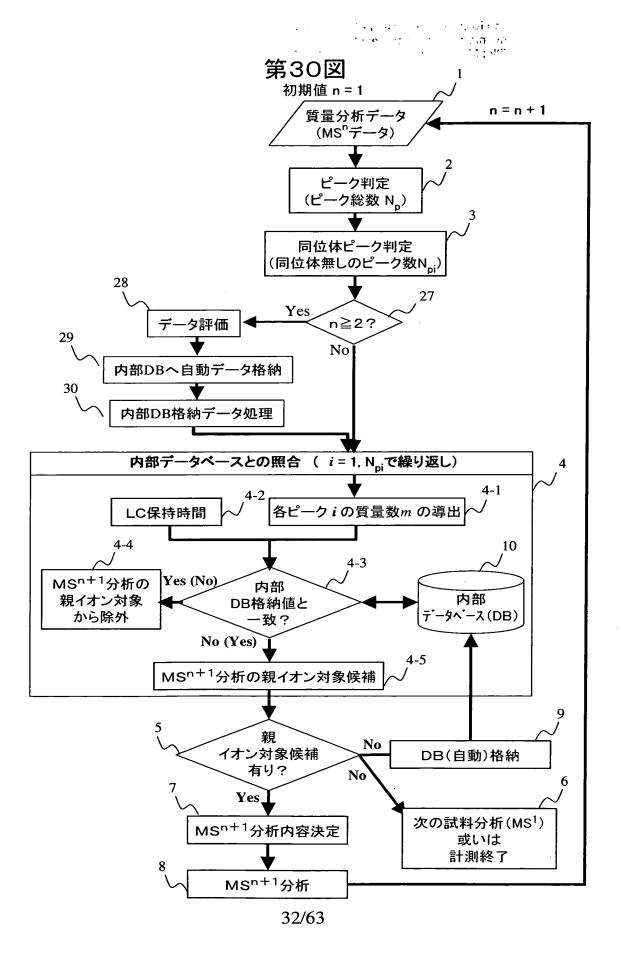
内部デー	-タベース				
No.	M [Da]	価数z	T [min]	Accumulation time[msec]	quality
1	921.23	2	24.5	260	5
2	926.09	2	26.9	345	4
3	973.26	2	32.0	289	4
4	700.39	2	34.1	401	5
5	480.66	2	39.2	269	3
6	582.29	2	44.7	159	2
7	1638.66	2	47.8	362	4
8	1954.86	3	50.8	410	5
/ <u>9</u> k	507.8	2	51.1	359	5
10	ッ <b>ク</b> 1510.54	2	57.6	190	3
/ 11	740.25	2	59.8	278	5
12	1478.5	2	61.3	371	4
•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	
•	•	•	•	•	•/ /



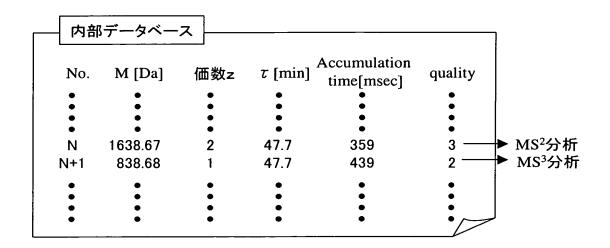


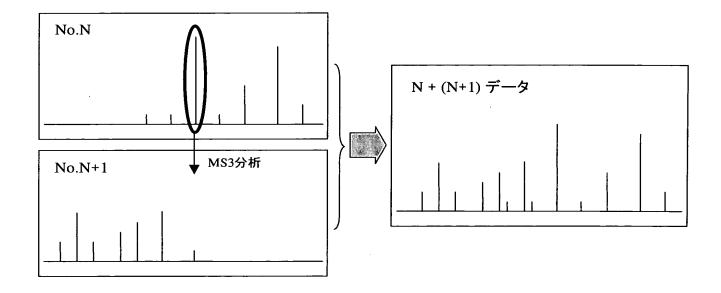
# 第29図

<u>8</u>	M [Da] 921.23 926.09 973.26 700.39 480.66 582.29 1638.66 1638.67	価数z 2 2 2 2 2 2 2 2 2	τ [min] 24.5 26.9 32.0 34.1 39.2 42.7 47.6	Accumulation time[msec] 260 345 289 401 269 159	quality 5 4 4	
2 3 4 5 6 7 8	926.09 973.26 700.39 480.66 582.29 1638.66 1638.67 1638.65	2 2 2 2 2 2 <u>2</u>	26.9 32.0 34.1 39.2 42.7	345 289 401 269 159	4 4	
2 3 4 5 6 7 8	926.09 973.26 700.39 480.66 582.29 1638.66 1638.67 1638.65	2 2 2 2 2 2 <u>2</u>	26.9 32.0 34.1 39.2 42.7	345 289 401 269 159	4 4	
3 4 5 6 <u>7</u> <u>8</u>	973.26 700.39 480.66 582.29 1638.66 1638.67 1638.65	2 2 2 2 <u>2</u> <u>2</u>	32.0 34.1 39.2 42.7	401 269 159		
5 6 <u>7</u> <u>8</u>	480.66 582.29 1638.66 1638.67 1638.65	2 2 <u>2</u> <u>2</u>	39.2 42.7	269 159		
6 <u>7</u> <u>8</u>	582.29 1638.66 1638.67 1638.65	2 <u>2</u> <u>2</u>	42.7	159	5	
<u>7</u> <u>8</u>	1638.66 1638.67 1638.65	<u>2</u> 2			3	
<u>8</u>	1638.67 1638.65	<u>2</u>	47.6		2 _	
<u>8</u>	1638.67 1638.65	<u>2</u>		362	2	
		_	<u>47.7</u>	359	2	
<u>9</u>	1000 00	<u><b>2</b></u>	47.7	339	3	
	<u>1638.66</u>	<u>2</u>	47.7	352	3	Ì
	1638.67	<u>2</u> 2	47.8	254	4	
12	1638.68	<u>2</u>	<u>47.8</u>	262	5	
13	1638.66	<u>2</u>	<u>47.8</u>	219	5 \	
	1638.65	<u>2</u> <u>2</u>	<u>47.8</u>	285	4	≯ 同一イオンとみなせる
	1638.66	<u>2</u>	<u>47.8</u>	248	5 (	(質量数、価数、
<u> 16</u>	1638.65	<u>2</u>	<u>47.8</u>	299	4	保持時間にて判定)
<u>17</u>	1638.68	<u>2</u>	<u>47.9</u>	280	4	1
<u>18</u>	<u>1638.67</u>	<u>2</u>	<u>47.9</u>	310	3	
	<u>1638.67</u>	2 2 2 2	<u>48.0</u>	307	3	
<u> 20</u>	<u>1638.64</u>	<u>2</u>	<u>48.0</u>	336	3	
<u>21</u>	<u>1638.65</u>	<u>2</u>	<u>48.0</u>	318	3	<b>*</b>
22	1954.86	3	50.8	410	5	<i>重複するデータを</i>
23	507.8	2	51.1	359	5	データベースから削り
24	1510.54	2	57.6	190	3	
25	740.25	2	59.8	278	5	
26	1478.5	2	61.3	371	4	
•	•	•	•	•	•	
•	•	•	•	•	•	
•	•	•	•	•	•	
•	•	•	•	•		1
•	•	•	•	•	• 1 /	

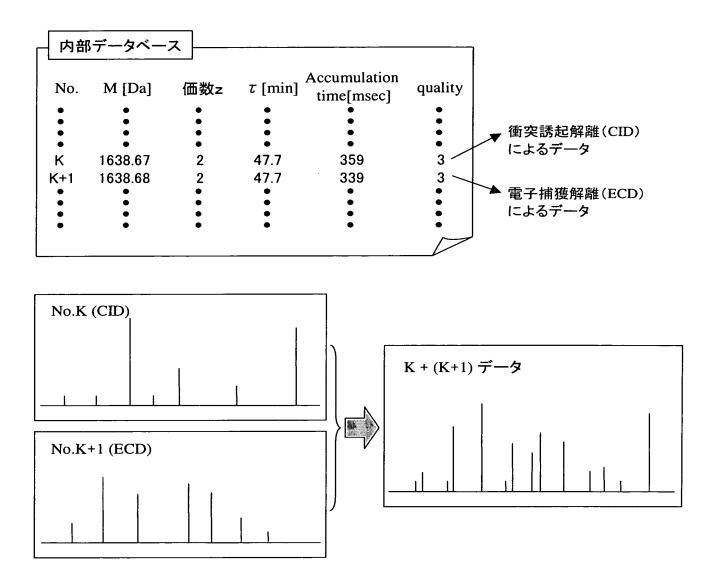


第31図

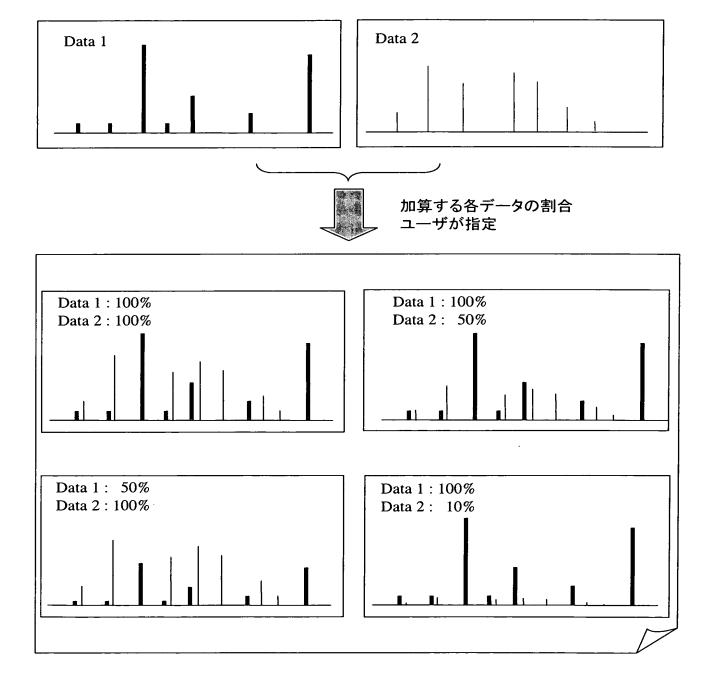


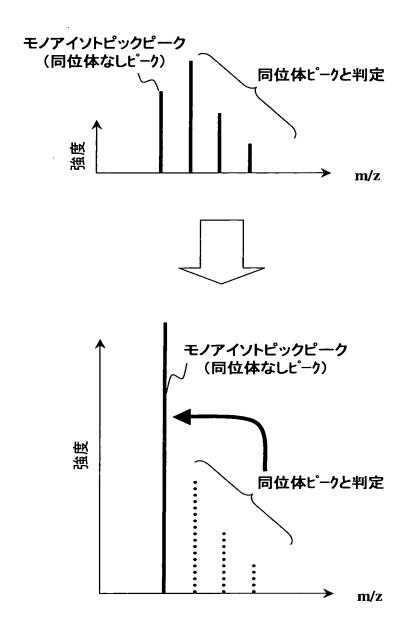


## 第32図



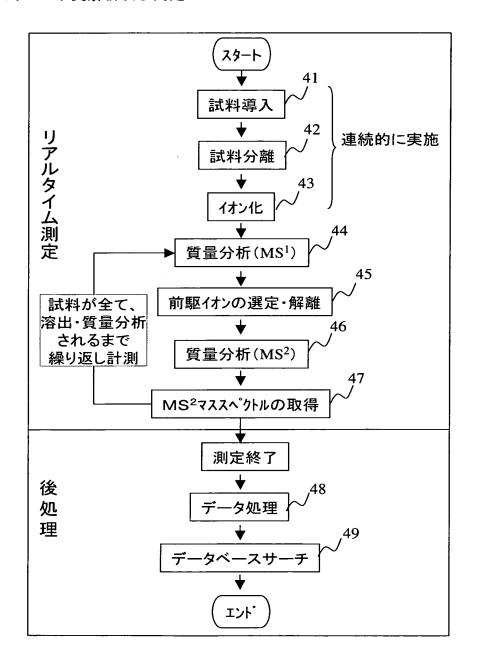
## 第33図





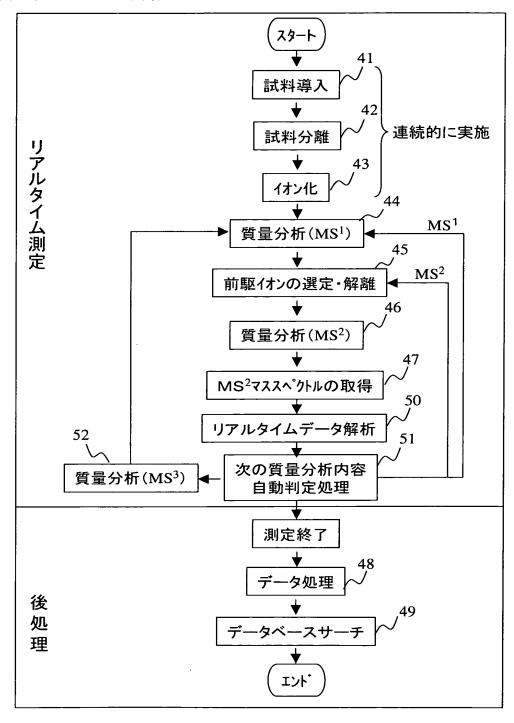
### 第35a図

#### 従来のタンパク質解析及び同定フロー

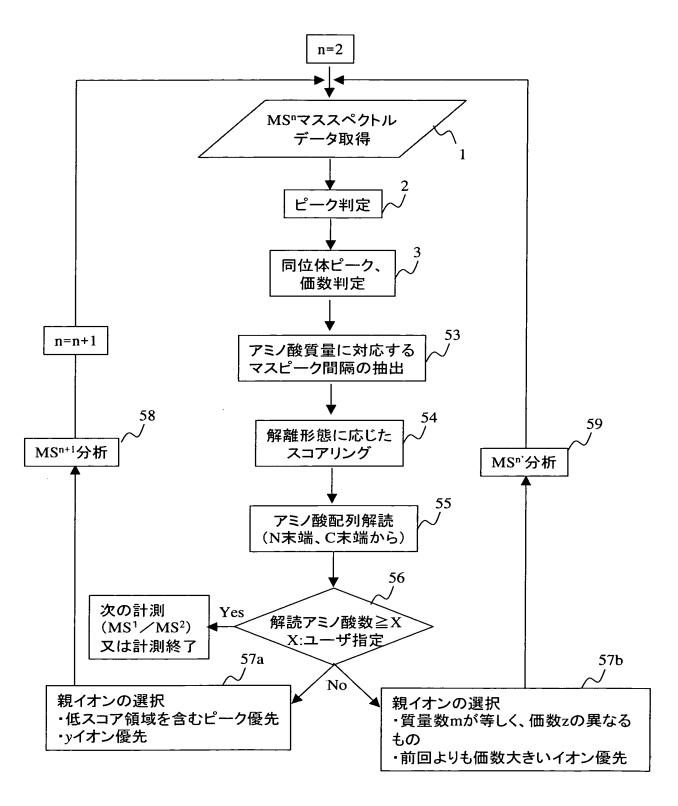


### 第35b図

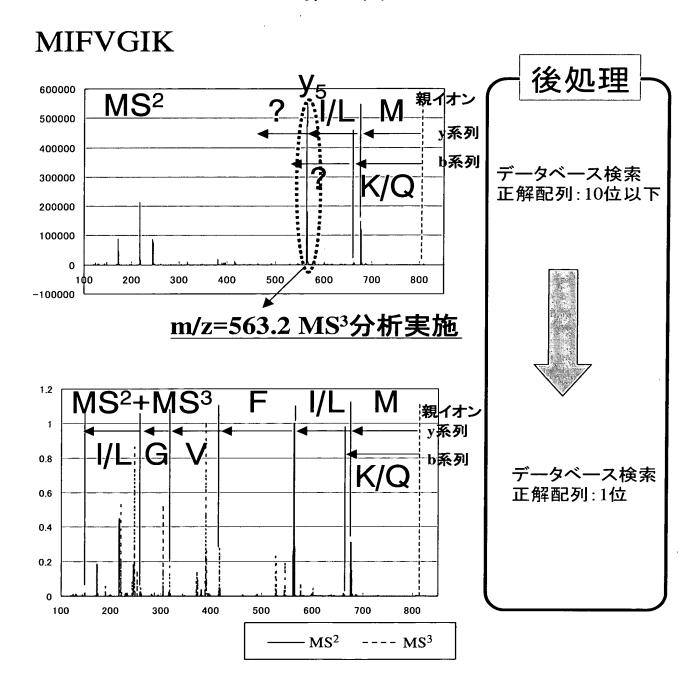
#### 本実施例のタンパク質解析及び同定フロー



### 第36図

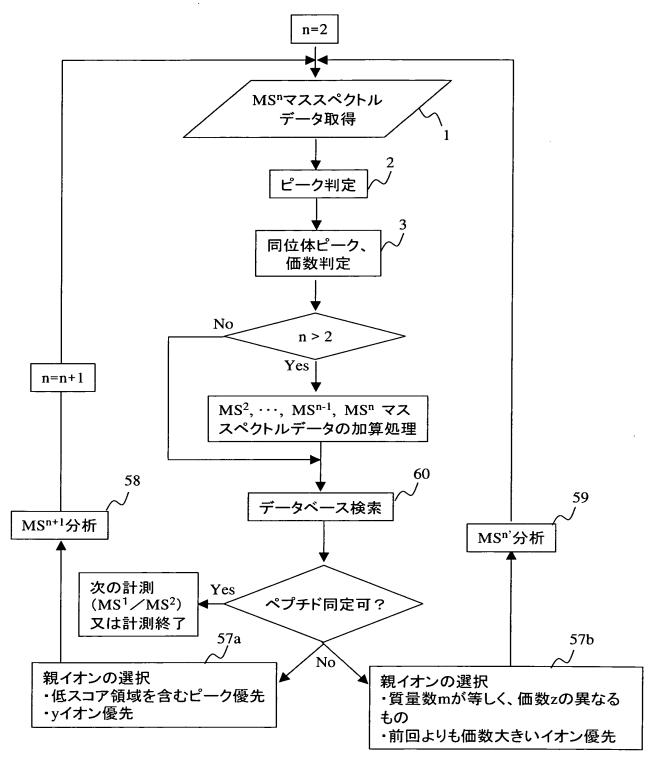


### 第37図

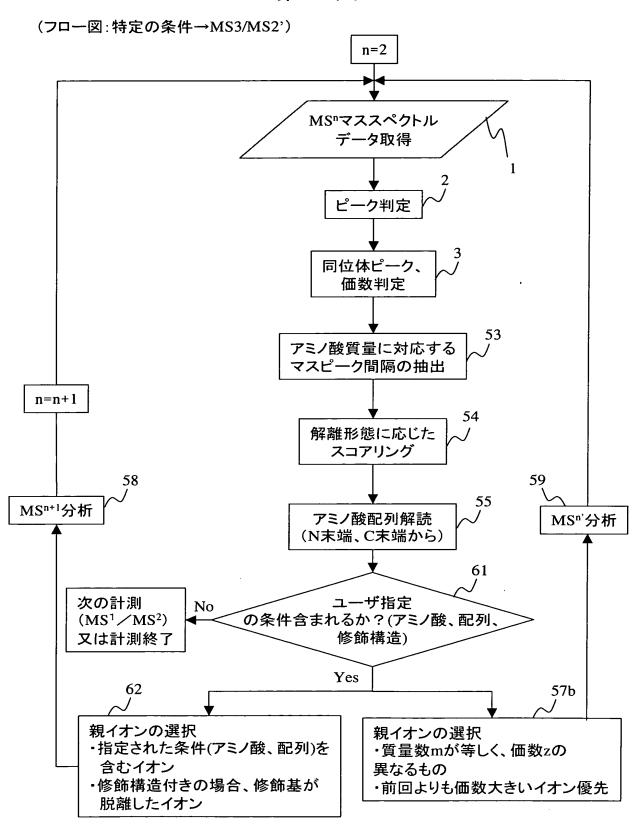


第38図

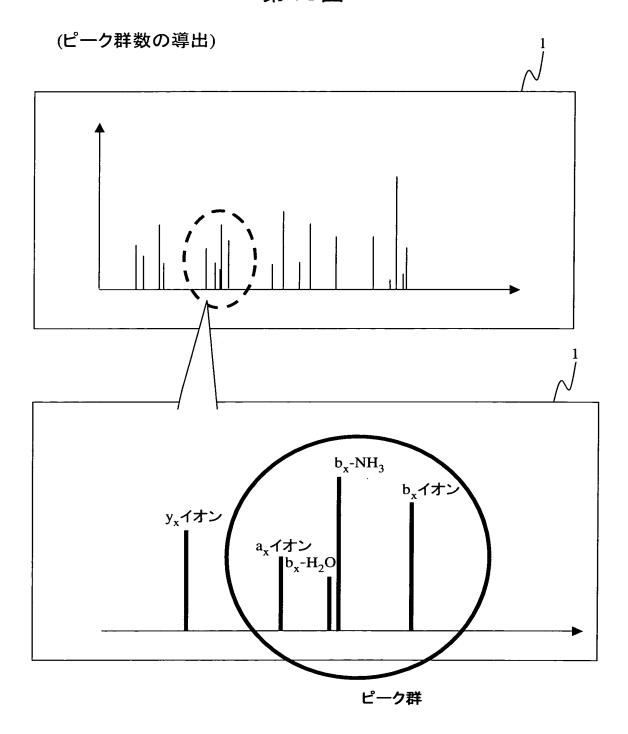
フロー図(リアルタイムデータベース検索)



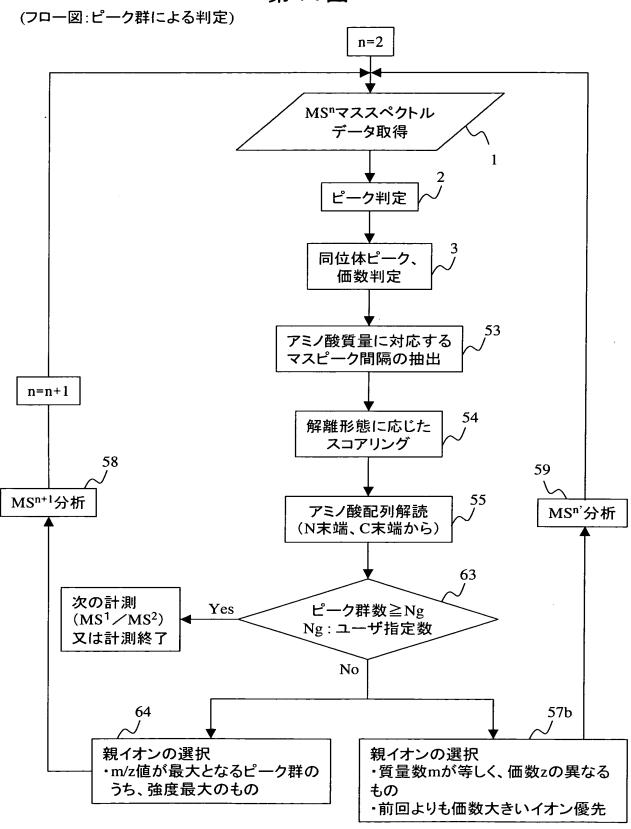
#### 第39図



第40図

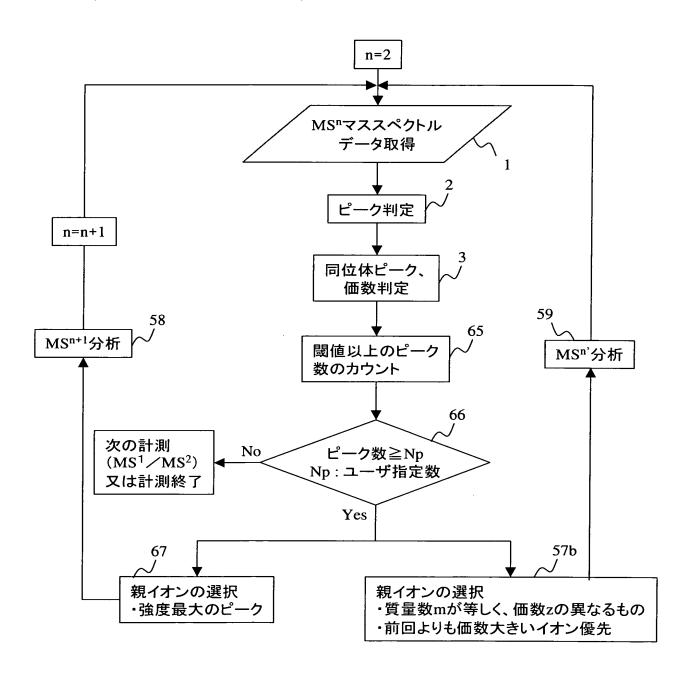


第41図

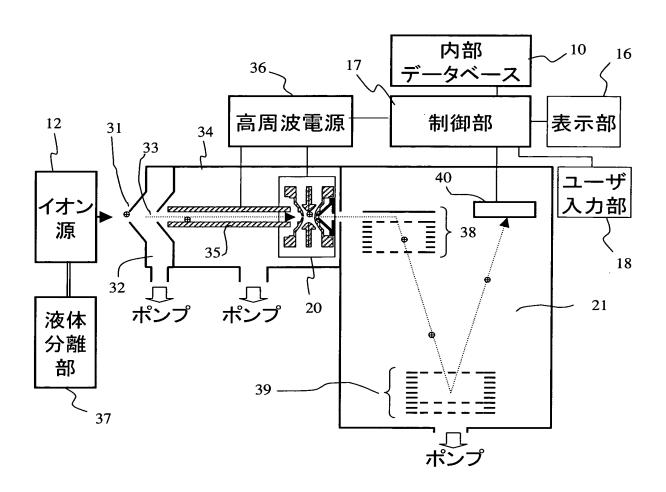


第42図

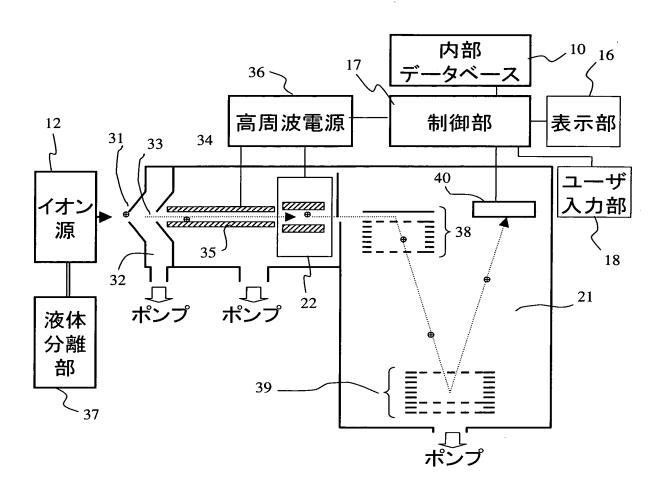
(フロ一図:ピーク数による判定)



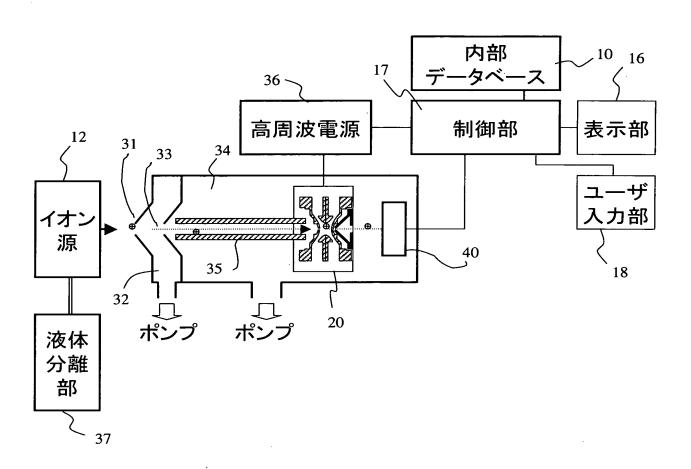
第43図



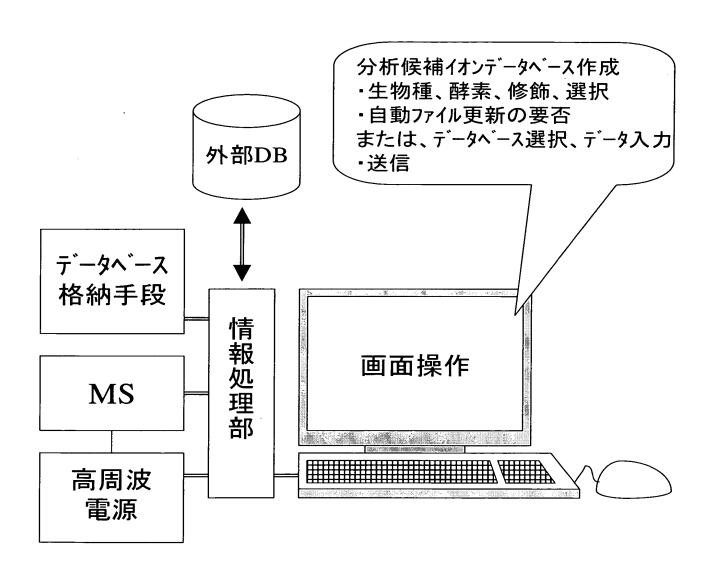
第44図



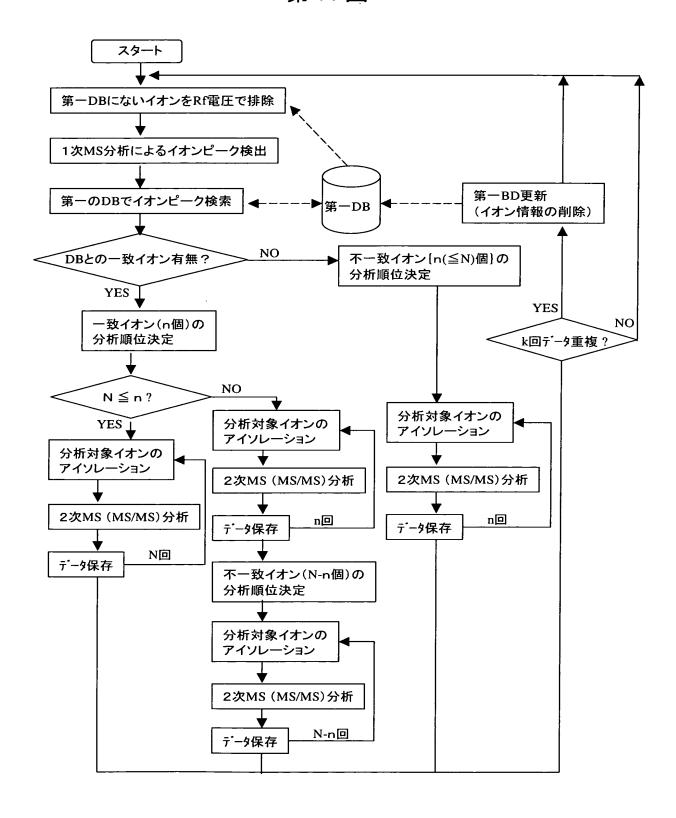
第45図



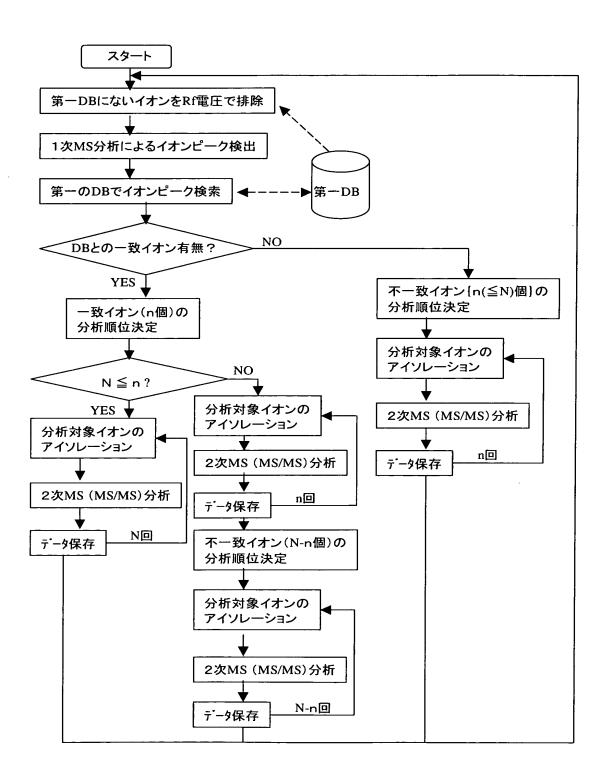
第46図



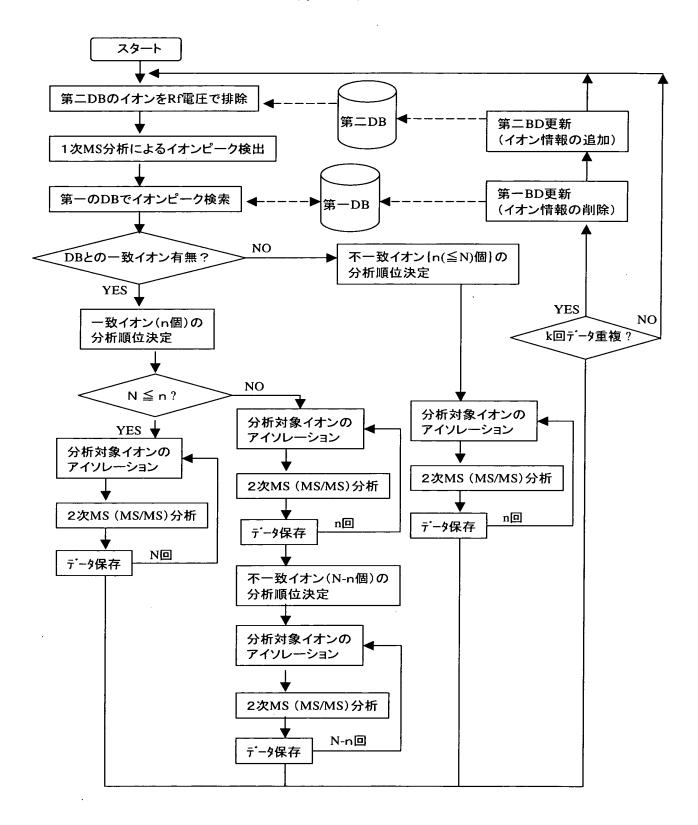
第47図



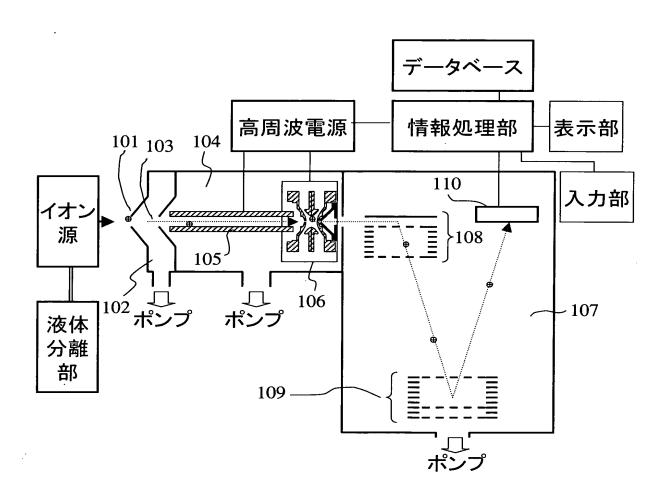
### 第48図



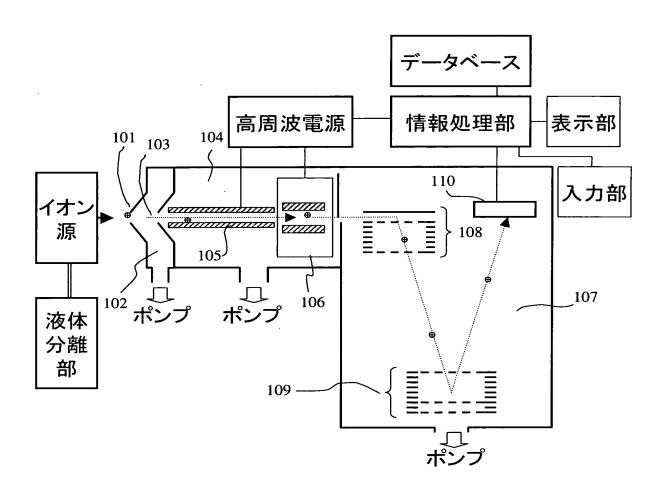
第49図



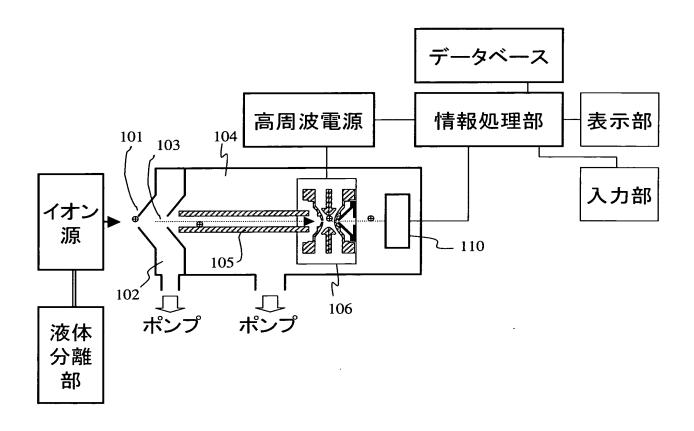
第50図

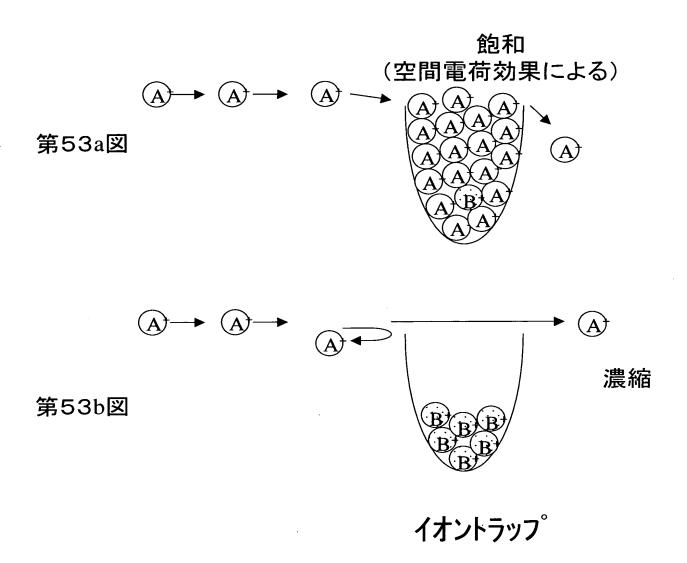


第51図

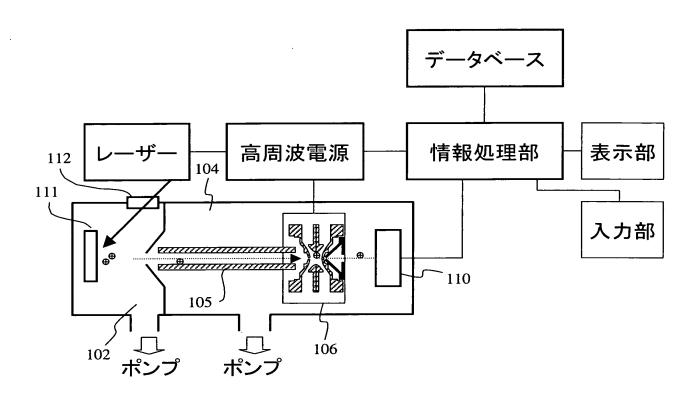


第52図

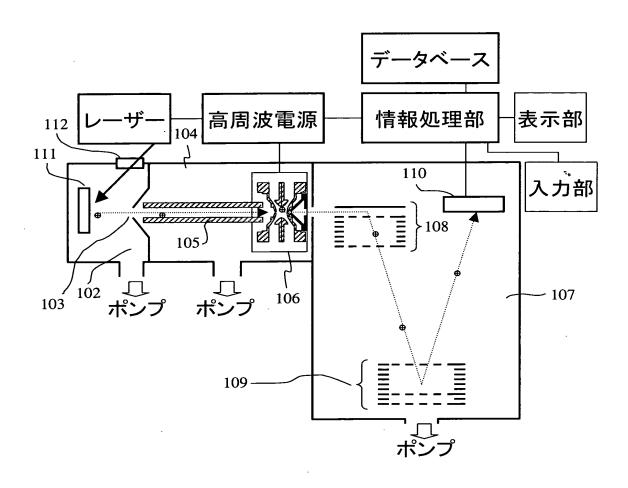




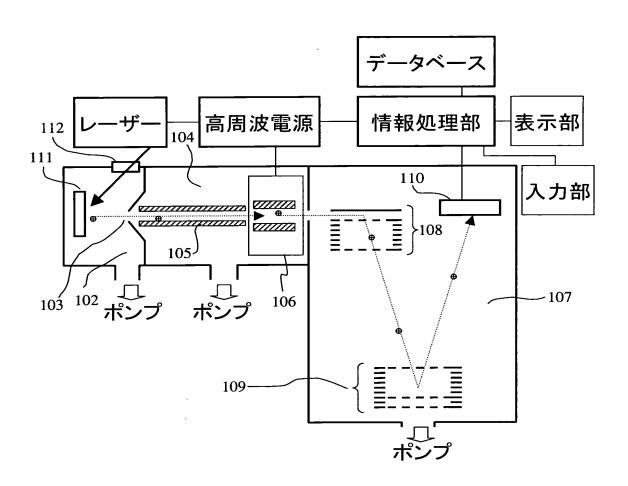
第54図



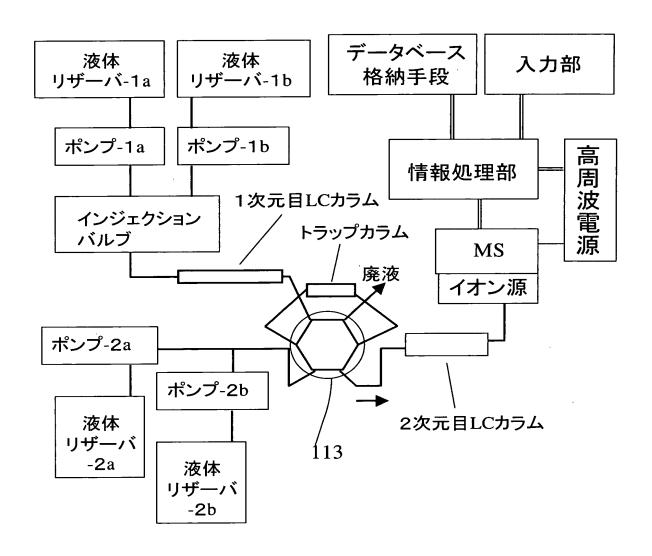
第55図



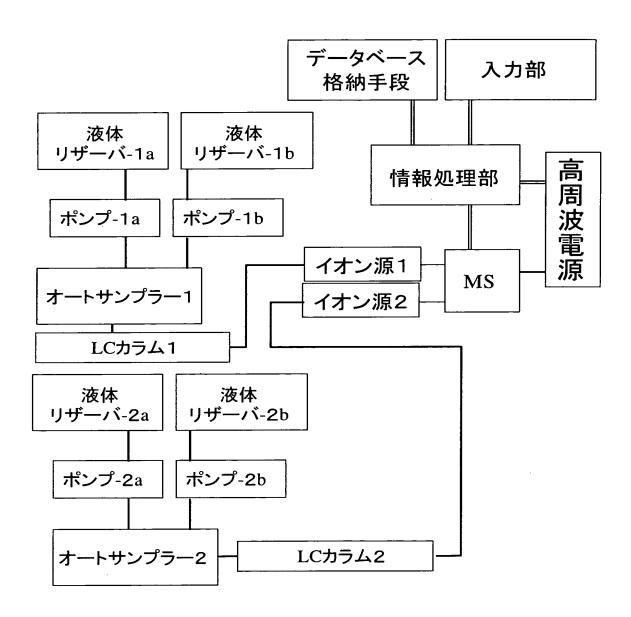
第56図

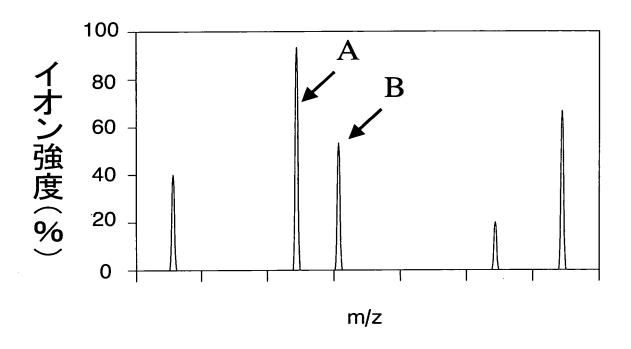


第57図



## 第58図





# 第60図

